

19.5.2020 כה באייר תש"ף

אנזימים מאננס מזרזים פירוק חלבונים

מבוסס על בעיה 4, בחינת בגרות מעשית בביולוגיה תשע"ח (2018)

ומצגת [FRUIT RIPENING AND PROTEASE ACTIVITY](#) מאת Janet Byun

בקובץ מתוארת שיטה כמותית לבדיקת פעילות [פרוטאזות](#)¹ והערות למורה וללבורנט בהתייחס ליישום השיטה בביוחקר.

מבוא

בפרי ובגבעול של אננס, כמו גם בחלקים אחרים של הצמח, יש שני אנזימים המזרזים פירוק חלבונים ומכונים ברומליין (Bromelain)². אנזימים אלה משמשים בתעשיית תמרוקים ובריכוך בשר. במיצוי מימי שמכנים מפרי אננס, כמו זה שבוצע בבחינת הבגרות, אפשר לבדוק את קצב פעילות האנזימים האלה על פי קצב פירוק החלבון ג'לטין³.

עקרונות שיטת המדידה המוצגים להלן מבוססים על תכונות הג'לטין ותוצרי פירוקו:

- כאשר משהים תמיסת ג'לטין בטמפרטורה נמוכה מ-10°C נוצרים קשרים בין שרשרות החלבון שבתמיסה והיא נקרשת.
- כאשר משהים תמיסת ג'לטין בטמפרטורה גבוהה מ-10°C שרשרות החלבון שבתמיסה נפרדות זו מזו והתמיסה אינה נקרשת ([ראו גם בחינת בגרות תשע"ח, בעיה 4, עמוד 2 איור 1](#)).
- טריפסין הוא אנזים המזרז פירוק חלבונים לשרשרות קצרות הנקראות פפטידים. שלא כמו תמיסת ג'לטין, תמיסת פפטידים אינה נקרשת בטמפרטורה נמוכה מ-10°C.
- כאשר מוסיפים לתמיסת ג'לטין מיץ אננס המכיל אנזימים המזרזים פירוק חלבונים, הג'לטין מתפרק ומתקבלים פפטידים שבטמפרטורה נמוכה מ-10°C אינם נקרשים. על פי הספרות מיצוי של פרי פפאיה מכיל [פפאין](#) שגם הוא פרוטאז. פפאין מצוי גם בעלים ובשורשים של פפאיה.

¹ בעברית, אנזימים המזרזים פירוק חלבון ובלועזית, פרוטאזות או אנזימים פרוטאוליטיים.

² עוד על תכונות [ברומליין](#) ועמידותו בפני טמפרטורות גבוהות

³ ג'לטין הוא חלבון המשמש בעיקר כחומר מייצב בתעשיית המזון.

הערות למורה וללברנט

בניסוי יוצקים ג'לטין לצלחות פטרי, ולאחר שהג'לטין נקרש יוצרים בו באריות שלתוכן מכניסים את מיצוי האננס.

הכנת צלחות פטרי עם החלבון ג'לטין (הוראות ההכנה מבוססות על ההנחיות ברשימת ציוד וחומרים תשע"ח 2018)

א. העבירו 12.5 גרם אבקת ג'לטין לארלנמאיר או לבקבוק מדידה בנפח מתאים והוסיפו מים מזוקקים עד לנפח סופי של 250 מ"ל.

ב. הוסיפו לתמיסת הג'לטין מעט אבקת צבע מאכל⁴ וערבבו היטב את התמיסה. אם צבע התמיסה בהיר, הוסיפו עוד מעט אבקה עד שצבע התערובת יהיה כהה.

ג. העבירו את תמיסת הג'לטין לארלנמאיר וחממו את הנוזל על פלטה תוך ערבוב מתמיד, עד ל- 50°C.

ד. השתמשו בעט לסימון דק שאינו מחיק וסמנו קו על דופן החלק התחתון של כל אחת מהצלחות הדרושות לכם (ראו איור 1).

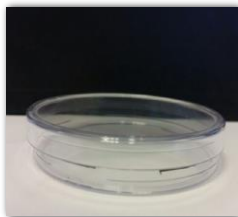
ה. בעוד תמיסת הג'לטין חמה, צקו מהתמיסה לכל אחת מהצלחות עד לקו הסימון. כך יהיה נפח זהה של ג'לטין בכל אחת מהצלחות.

ו. כסו את כל הצלחות והעבירו אותן לקירור. הוציאו את הצלחות רק לאחר שהג'לטין יתמצק. **להזכירכם:** ג'לטין נקרש בטמפרטורה נמוכה מ- 10°C.

הכנת באריות בג'לטין, הוספת מיצוי אננס וקריאת תוצאות

ז. באמצעות קודח פקקים שקוטרו 8.5 מ"מ יצרו בכל צלחת באריות. אם ברשותכם די צלחות, מוטב ליצור 4 או 5 באריות בכל צלחת⁵.

ח. טפטפו 5 טיפות מיצוי אננס לכל בארית שבהיקף, כסו את הצלחות והעבירו אותן למשך יממה במקרר.



בכל צלחת
תוכלו להכין
6-7 באריות

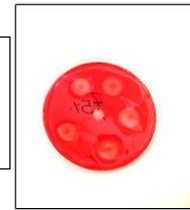
איור 1: סימון קו על צלחת אגר



איור 2: הוספת טיפות מיצוי אננס לבאריות

⁴ צבע כהה (לדוגמה, אדום) מבליט את האזור בו נמצא הג'לטין שלא פורק בהשוואה לאזור בו הג'לטין פורק
⁵ כאשר הבאריות צפופות יתכן שתיווצר הילה מסביב לבארית אחת והיא תתמזג עם הילה של בארית אחרת שלצידה.

איור 3: חמש חזרות ובקרה עם מים בכל בארית שבהיקף יש מיצוי אננס בריכוז זהה ובנפח זהה (חזרות). הבארית שבמרכז היא בקרה שבה יש מים מזוקקים



לידיעתכם: האנזים המזרז את פירוק הג'לטין פעיל בטמפרטורה נמוכה ובקצב איטי.

ט. אם באחת מהבאריות נוצרה הילה נוזלית (ראו איור 3), הוציאו את כל הצלחות מהמקרר. השתמשו בנייר מילימטרי⁶ ומדדו את ההילה בכל הבאריות (ראו הערות לשיטת העבודה, סעיף 2).

הערות לשיטת העבודה:

1. במיצוי אננס שבבארית יש אנזימים המזרזים את פירוק הג'לטין שבשולי הבארית. כתוצאה מהפירוק הסימטרי נוצרת הילה שצורתה טבעת המקיפה את הבארית. מטעמי נוחות ההמלצה היא למדוד את הקוטר הכללי שהוא הקוטר של הבארית ושל האזור שבו פורק הג'לטין.
2. בהנחה שקוטר כל הבאריות זהה, מומלץ למדוד בתחילת הניסוי קוטר של בארית אחת וכאמור, בסוף הניסוי למדוד בכל טיפול את הקוטר הכללי. אם מחסירים מהקוטר הכללי את קוטר הבארית ומחלקים את ההפרש ב-2, הערך שמתקבל הוא **רוחב ההילה**.
3. במרכז צלחת אפשר להוסיף שתי באריות. בארית לבקרה שבה 5 טיפות מים מזוקקים (ללא מיצוי אננס) המאפשרת לשלול הסבר חלופי על פיו בתנאי הניסוי ג'לטין מתפרק מעצמו ונוצרת הילה מסביב לבארית. בארית אחרת לבקרה שבה 5 טיפות של מיצוי אננס מורתח מאפשרת לשלול הסבר חלופי על פיו במיצוי ישנם חומרים אחרים (לא אנזימים) המזרזים את פירוק הג'לטין. יש להשוות את רוחב ההילה שהתקבל בכל טיפול לרוחב ההילה שהתקבל בשני טיפולי הבקרה.
4. בטיפולים שבניסוי, ככל שקצב פירוק הג'לטין גדול כך רוחב ההילה שיתקבל יהיה גדול יותר.
5. מומלץ למדוד את ה-pH של המיצויים ובמידת הצורך להכין את המיצוי בבופר.

⁶ כדי שלא לפגוע בג'לטין שלא פורק.

הערות לשילוב הנושא במסגרת עבודת ביוחקר

בסעיפים 1 - 3 מוצגים כמה רציונות הקשורים לנושא הניסוי. המורה יוכל לפתח כל אחד מהם, לפצח ניסוי מקדים ולבדוק עם תלמידיו את ההיתכנות של הרציון שבחר לביוחקר.

תזכורת: לפני ביצוע ניסוי כלשהו, חובה על המורה לבדוק את הוראות הבטיחות הראוונות כפי שפורסמו באתר מפא"ר ולצבור רק על פיהן.

1. בניסוי מוקדם אפשר להכין מיצוי מפירות שונים ולבדוק בכל אחד מהמיצויים את פעילות הפרוטאזות.

2. בקובץ "[רעיונות לנושאים בעבודת ביוחקר](#)" בעמ' 4, בנושא "אנזימים" יש הצעות לבדיקת השפעת גורמים שונים על פעילות אנזימים מפרקי חלבונים שכתב ד"ר עומר חורש. ההצעות מתארות שיטת מדידה דומה לזו שהייתה בבעיות 4-6 בבחינת בגרות מעשית בביולוגיה תשע"ח.

על פי הספרות ידוע כי [פרוטאזות שבאננס](#) עמידים בפני טמפרטורה גבוהה. לדוגמה, כאשר תמיסת ברומליין נשמרת במשך שעה בטמפרטורה של 50°C , פעילות האנזימים היא 83% מפעילות האנזימים ב- 40°C . ניתן להשתמש בשיטת המדידה שהוצגה בעמודים 1-2 לעיל כדי לבדוק השפעה של טמפרטורה על המבנה המרחבי של הפרוטאזות במיצוי אננס, והוא זה שמשפיע על קצב פעילותם של אנזימים אלה. לשם כך יש לבצע טיפול מוקדם בו חושפים במשך פרק זמן קבוע סדרה של מיצויים, כל מיצוי - לטמפרטורה אחרת. לאחר הטיפול יש לפעול כמתואר בסעיפים א-ט.

3. אפשר לבדוק פעילות פרוטאזות גם ב:

- ריכוזים שונים של מיצוי אננס.
- דרגות הבשלה שונות של פירות אננס.
- אורגניזמים אחרים, כגון: פטריות (לדוגמה, שמרים) חיידקים (לדוגמה, בצילוסובטיליס).



Faculty of Social Sciences
The Pinchas Churgin
School of Education

הפקולטה למדעי החברה
בית הספר לחינוך
ע"ש פרופ' פ. חורגין

משרד החינוך, המזכירות הפדגוגית
הפיקוח על הוראת הביולוגיה
המרכז לפיתוח ותמיכה במעבדות
הביולוגיה בבתי הספר

